

ХОЛИНЭСТЕРАЗА ТРЕМАТОД И НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ИХ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Е. А. Котикова

Кафедра зоологии беспозвоночных Ленинградского государственного университета
и Лаборатория эволюционной морфологии Зоологического института АН СССР,
Ленинград

Ацетилхолинэстераза (АХЭ) и бутирилхолинэстераза (БХЭ) обнаружены гистохимически методом Жеребцова у шести видов трематод и двух видов метацеркарий. Холинэстеразы — ферменты, топографически связанные с нервной системой, поэтому используемая методика позволила исследовать морфологию нервной системы трематод. Приводится сопоставление данных по строению нервной системы с представлениями Ошмарина о разделении тела трематод на двигательную и половую части.

В последние годы большое внимание уделяется изучению физиологии и биохимии паразитических червей. Немалое значение (особенно в связи с необходимостью научного обоснования применения тех или иных антигельминтиков) приобретает вопрос о наличии у них системы ацетилхолинэстеразы. Цель данного исследования — обнаружить у дигенетических сосальщиков ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БХЭ). Эти ферменты топографически связаны с нервной системой, поэтому гистохимическое выявление их позволяет получить данные по анатомии нервной системы трематод (Котикова, 1967), которая до сих пор была изучена у сравнительно ограниченного числа видов.

Работа проводилась на Кафедре зоологии беспозвоночных Ленинградского университета и в Лаборатории фармакологии биологически активных веществ Института эволюционной физиологии им. Сеченова. Пользуюсь случаем выразить глубокую благодарность моим руководителям доктору биологических наук Т. А. Гинецинской и кандидату биологических наук Л. Г. Магазанику.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследования послужили трематоды шести видов из рыб и амфибий и метацеркарии двух видов из беспозвоночных (см. таблицу). Сбор материала проводился в 1965—1968 гг. на оз. Селигер, в Старом Петергофе, на Баренцевом и Белом морях. Изучение холинэстераз у трематод проводилось гистохимически по методу Жеребцова (Gerebtzoff, 1959).

Червей фиксировали 4% нейтральным формалином 20 минут, после чего промывали водой в течение 40 минут. Инкубация (время, в течение которого идет реакция) производилась при комнатной температуре. Чтобы получить четкую анатомическую картину нервной системы, потребовалось для каждого из исследованных видов подобрать оптимальный период инкубации (см. таблицу). Инкубационная среда содержит ацетилтиохолин или бутирилтиохолин, так что если в тканях исследуемых животных присутствуют холинэстеразы, то происходит реакция, в результате которой образуется холинат меди. Последний, реагируя с сульфидом аммония, дает сульфид меди, выпадающий в виде коричневого осадка.¹

¹ Подробное изложение методики см. в работе Котиковой, 1967.

Материал исследования

Паразит	Хозяин	Место локализации паразита	Период инкубации (час.)
<i>Microphallus pygmaeus</i> Lewin- sen (метацеркария)	Кл. <i>Mollusca Littorina</i> <i>obtusata</i>	Печень	7
<i>Podocotyle atomon</i> Rud. (метацеркария)	Кл. <i>Crustacea Gammarus</i> <i>oceanicus</i>	Полость тела	12
<i>Diplodiscus subclavatus</i> Goeze	Кл. <i>Amphibia Rana</i> <i>ridibunda</i>	Кишечник	25
<i>Haematoloechus</i> sp.	<i>Rana ridibunda</i>	Легкие	25
<i>Opisthoglyphe ranae</i> Frölich	<i>Rana ridibunda</i>	Кишечник	25
<i>Haplometra cylindracea</i> Zeder	<i>Rana temporaria</i>	Легкие	25
<i>Sphaerostoma bramae</i> Müller	Кл. <i>Pisces Abramis</i> <i>bramae</i>	Кишечник	43
<i>Podocotyle atomon</i> Rud.	<i>Gadus gadus</i>	Кишечник	43

ХОЛИНЭСТЕРАЗА У ТРЕМАТОД

Известно, что одним из основных медиаторов возбуждения нервной системы у позвоночных животных служит ацетилхолин (АХ). При передаче импульса с нерва на мышцу происходит разложение АХ под действием ферментов АХЭ и БХЭ. В результате сравнительно-физиологических исследований (особенно за последние годы) стало ясно, что у целого ряда беспозвоночных животных АХ также выступает в качестве медиатора нервной системы (Александрюк, 1964; Бузников, 1967).

Наличие у трематод ацетилхолина и фермента, гидролизующего этот медиатор (предположительно холинэстеразы), было впервые показано Бакком и Ури (Bacg, Oury, 1937) для *Fasciola hepatica*. Аналогичные данные позднее получены Бюдингом (Bueding, 1952). Применяв биохимический метод Нахмансона и Ротенберга (Nachmanson, Rotenberg, 1945), он обнаружил холинэстеразную активность в гомогенатах, приготовленных из тела сосальщика *Schistosoma mansoni*. Бюдингу удалось даже отделить АХЭ от БХЭ и установить, что концентрация холинэстеразы в тканях *S. mansoni* близка к содержанию этого фермента в центральной нервной системе позвоночных. Пеплер (Pepler, 1958), применив гистохимический метод Гомори (Gomori, 1952), обнаружил АХЭ у мирацидий *Schistosoma mansoni*, у которых этот фермент локализован вблизи середины тела. Интересно, что именно в этой части тела мирацидия располагается мозговой ганглий (Porter, 1938). Используя ту же гистохимическую методику, Резник (1966) обнаружила АХЭ у трематод сем. *Fasciolidae* и *Dicrocoeliidae* и указала, что ее локализация в значительной степени соответствует расположению нервных структур. Кроме того, по Резник, более слабой ферментативной активностью обладают и мышечные волокна.

С помощью применявшейся нами гистохимической методики Жеребцова наличие холинэстераз у трематод удалось найти только в нервной системе. Обнаружена как АХЭ, так и БХЭ, причем АХЭ преобладает. Наибольшая концентрация этих ферментов наблюдается в центральной нервной системе. Максимальное скопление холинэстераз отмечено в мозговых ганглиях и продольных стволах. По ходу этих стволов отмечено уменьшение концентрации ферментов спереди назад. В поперечных комиссурах холинэстераз значительно меньше, чем в продольных стволах.

Можно полагать, что наличие холинэстераз в нервной системе трематод служит свидетельством существования у них системы ацетилхолин-холинэстераза, необходимой для передачи нервного возбуждения. Говоря

о холинэстеразах у трематод, нельзя обойти молчанием тот факт, что у разных видов наблюдаются различия в сроках инкубации, указывающие, по-видимому, на различия в активности данных ферментов. Эти различия особенно резко проявляются у трематод, паразитирующих в разных хозяевах. Так, у паразитов беспозвоночных сроки инкубации минимальны. У всех исследованных паразитов рыб и амфибий они значительно больше (см. таблицу).

Характерно, что сроки инкубации не зависят от размеров исследованных червей. Ограниченность данных не позволяет пока дать какие-либо объяснения этому факту.

МОРФОЛОГИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ТРЕМАТОД

Изучение нервной системы трематод представляет значительные методические трудности, и в связи с этим данные об особенностях ее строения немногочисленны. Известно, что нервная система представлена мозгом (эндоном) и нервной решеткой (ортогоном), которая состоит из трех пар продольных нервных стволов, соединенных поперечными комиссурами. Кроме того, от мозгового ганглия отходит вперед несколько коротких тяжей, иннервирующих ротовую присоску. Особенно большого развития достигают вентральные стволы (Hanström, 1928).

Рейзингер (Reisinger, 1962) с помощью ализарин-кофеиновой методики обнаружил у трематод не только центральную нервную систему, но и тяжи, иннервирующие внутренние органы. От указанной схемы строения отличается нервная система *Opisthorchis felineus*, у которой, по данным Колмогоровой (1953), имеется не три, а четыре пары задних продольных стволов.

Строение нервной системы исследованных видов в целом соответствует изложенной схеме, однако использованная методика позволила получить более детальную картину и обнаружить существенные различия между некоторыми представителями. Эти различия, возможно, связаны с размерами, степенью подвижности и особенностями биологии.

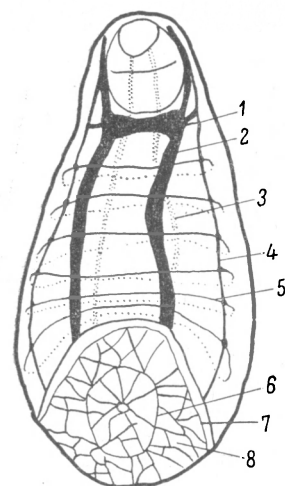


Рис. 1. Нервная система *Diplodiscus subclavatus*.

1 — мозговой ганглий; 2 — вентральный ствол; 3 — дорзальный ствол; 4 — латеральный ствол; 5 — кольцевая комиссура; 6 — внутреннее нервное кольцо присоски; 7 — наружное нервное кольцо присоски; 8 — присоска.

Diplodiscus subclavatus Goeze (рис. 1) имеет короткое широкое тело, на заднем конце которого расположена большая мускулистая брюшная присоска. Нервная система *D. subclavatus* представлена парным мозговым ганглием, обе доли которого связаны короткой, широкой перемычкой. От ганглия вперед отходят три пары нервных стволов, соединенных поперечной комиссурой. Следует отметить, что перемычки между вентральными

стволами обнаружить не удалось. Назад отходит пара толстых вентральных нервов и пара дорзальных. Латеральные стволы связаны с ганглием двумя довольно толстыми перемычками. Все три пары задних продольных стволов соединены между собой шестью кольцевыми комиссурами, равномерно располагающимися по всей длине тела сосальщика. В присосках различимы два нервных кольца, которые можно соответственно назвать внутренним и наружным. В брюшной присоске имеется также густая сеть тонких нервных волокон.

Microphallus pygmaeus L. Изучены только метацеркарии, морфологически почти идентичные взрослым формам, так как они уже обладают полностью сформированным половым аппаратом. Продольные нервные стволы равномерно развиты на всем их протяжении. Они соединены шестью кольцевыми комиссурами, расположенными по всей длине тела. Все три пары передних нервных стволов тоже соединены кольцевой комиссурой.

На заднем конце тела вентральные и дорзальные нервные стволы соединяются попарно.

Sphaerostoma bramae Müller. Нервные элементы передней (до уровня брюшной присоски) и задней частей тела резко различаются по своему развитию. В передней трети тела нервные элементы хорошо выражены. От ганглия отходят вперед к ротовой присоске три пары коротких нервных стволов, соединенных кольцевой комиссурой. Вентральная пара стволов, отходящих от ганглия назад, очень утолщена, имеются три поперечные комиссуры, соединяющие все три пары продольных стволов. Эти комис-

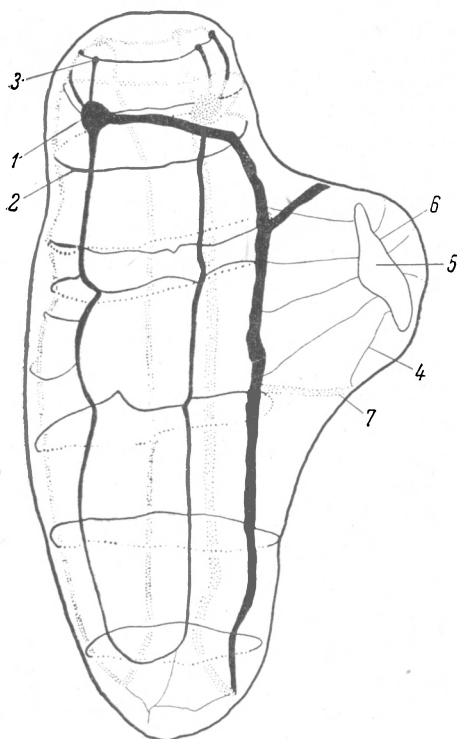


Рис. 2. Нервная система метацеркарии *Podocotyle atomon*.

1 — мозговой ганглий; 2 — кольцевая комиссура; 3 — утолщение нервного ствола; 4 — радиальный тяж; 5 — брюшная присоска; 6 — внутреннее нервное кольцо присоски; 7 — наружное нервное кольцо присоски.

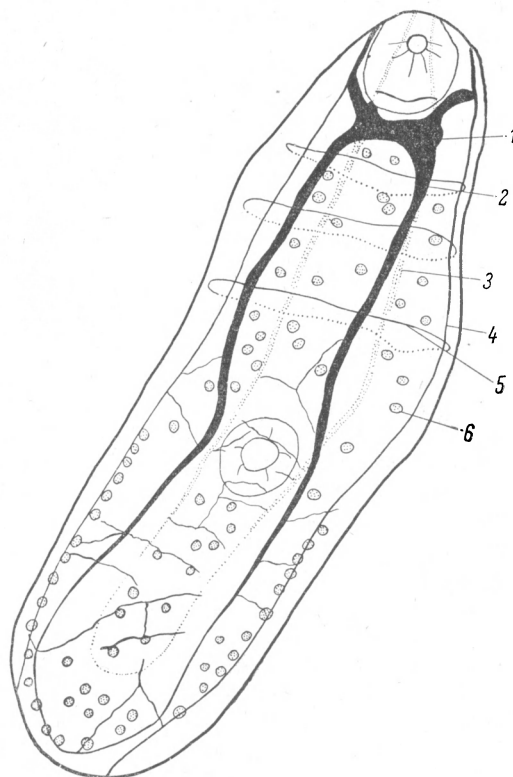


Рис. 3. Нервная система *Haematoloechus* sp.

1 — мозговой ганглий; 2 — вентральный ствол; 3 — дорзальный ствол; 4 — латеральный ствол; 5 — кольцевая комиссура; 6 — нервная клетка.

суры расположены между ротовой и брюшной присосками. Позади брюшной присоски вентральные стволы резко утончаются. Поперечные кольцевые комиссуры отсутствуют в этой части тела трематоды. Присоски иннервируются внутренними и наружными нервными кольцами, а также большим количеством нервных тяжей. В задней трети тела проходят тонкие тяжи к внутренним органам.

Podocotyle atomon Rud. Изучена нервная система мариты и метацеркарии. Строение нервной системы мариты почти полностью отвечает такому у *Sphaerostoma bramae*. Особенность заключается в том, что у данного вида обнаружена значительная холинэстеразная активность вокруг полового отверстия и в сумке цирруса. У метацеркарий (рис. 2) нервные стволы на всем протяжении имеют одинаковую толщину, при этом поперечные кольцевые комиссуры имеются и в заднем конце, позади брюшной присоски. Три пары передних нервных стволов соединены двумя кольцевыми комиссурами, причем в местах пересечения передней комиссуры со стволами образуются утолщения. Задние продольные стволы на каудальном

конце соединяются попарно. При этом стволы вентральной пары переходят друг в друга, а латеральные — соединяются с дорзальными. В брюшной присоске имеются два нервных кольца, соединенных восемью радиальными тяжами.

Haematoloechus sp. (рис. 3). Нервная система у этой трематоды построена по тому же плану, что и у двух предыдущих видов. Однако характерно наличие большого числа поверхностно расположенных биполярных нервных клеток, рассеянных более или менее равномерно. В задней области тела, позади брюшной присоски, можно различить латеральные сгущения их вдоль нервных стволов. С помощью применявшейся методики такие нервные клетки у других исследованных видов обнаружить не удалось. Возможно, это чувствительные клетки.

Haplometra cylindracea Zeder. Изучена морфология нервной системы только передней трети тела; ее строение совпадает с таковым у описанных выше видов. Позади брюшной присоски все тело сосальщика занято петлями матки, наполненной яйцами, что затрудняет там рассмотрение нервной системы.

Opisthioglyphe ranae Fröl. Строение нервной системы этой трематоды полностью совпадает с таковой *Podocotyle atomon*.

ОБСУЖДЕНИЕ

По строению нервной системы всех исследованных нами трематод можно разделить на две группы. К первой группе мы относим *Haematoloechus* sp., *Podocotyle atomon*, *Sphaerostoma bramae* и *Opisthioglyphe ranae*. Для мариит всех этих видов характерно более интенсивное развитие нервной системы в передней трети тела. В частности, вентральные нервные стволы достигают здесь наибольшей толщины. Начиная же от уровня брюшной присоски, они резко утончаются и на заднем конце тела едва заметны. Все кольцевые комиссуры, связывающие продольные нервные стволы, тоже сосредоточены в передней трети тела, за брюшной присоской их нет. Эта особенность соответствует мнению Ошмарина (1959) о разделении тела трематод на двигательную и половую части:² двигательная включает передний конец тела до уровня брюшной присоски, половая — задний конец червя. Двигательная часть обладает большей подвижностью, так как выполняет активные функции (движение, прикрепление, принятие пищи). Осуществление этих функций связано с интенсивным развитием нервных элементов. Половая часть тела, в которой сосредоточены гонады и наполненная яйцами матка, как правило, почти неподвижна. Наши данные показывают, что этот отдел тела иннервирован значительно слабее.

Ко второй группе можно отнести марииту *Diplodiscus subclavatus* и два вида метацеркарий — *Microphallus pygmaeus* и *Podocotyle atomon*. У этих трематод вентральные нервные стволы имеют одинаковую толщину на всем протяжении. Поперечные же комиссуры (в числе шести) равномерно располагаются по всей длине тела. Таким образом, у этих видов нет морфологических различий в строении нервной системы переднего и заднего отделов тела. Ошмарин подчеркивает, что разделение на двигательную и половую части выражено не у всех видов трематод. Так, сосальщикам *Diplodiscus subclavatus*, которые прочно прикрепляются с помощью мощной задней присоски и мало подвижны, это разделение не свойственно. Нет его и у очень мелких трематод сем. *Lecithodendriidae* и *Microphallidae*, целиком помещающихся между ворсинками кишечника хозяина. Это положение Ошмарина находит свое подтверждение и в наших данных: у *Diplodiscus subclavatus* и прогенетических метацеркарий *Microphallus pygmaeus* (морфологически почти не отличающихся от марииты этого вида) иннервация всех отделов тела одинакова. Интересно, что метацеркария *Podocotyle atomon*, у которой половая система еще не развита,

² Особенности строения нервной системы трематод в связи с разделением их тела на половую и двигательную части обсуждаются также и Гинецинской (1968).

тоже относится ко второй группе, тогда как у мариты разделение на двигательную и половую части уже отчетливо выражено, и по строению нервной системы мы относим ее к первой группе.

ВЫВОДЫ

1. У трематод гистохимическим методом обнаружены АХЭ и БХЭ, топографически связанные с нервной системой.

2. Трематодам, по-видимому, свойственна холинэргическая передача нервных импульсов.

3. Разделение тела большинства видов трематод на двигательную и половую части находит свое отражение в строении их нервной системы. В передней (двигательной) части продольные нервные стволы утолщены и соединены кольцевыми комиссурами, в задней (половой) — продольные стволы слабо развиты, а кольцевые комиссуры отсутствуют.

4. У некоторых видов (*Diplodiscus subclavatus* и др.), у которых брюшная присоска расположена на заднем конце, разделение тела на двигательную и половую части естественно отсутствует.

5. Отмечена значительная холинэстеразная активность и, по-видимому, морфологическая концентрация нервных элементов вокруг полового отверстия и в сумке цирруса у *Podocotyle atomon* и *Opisthoglyphe ranae*.

Литература

- Александрюк С. П. 1964. Роль некоторых медиаторов возбуждения в деятельности нервной системы гельминтов. Тр. гельминтол. лаб., 14 : 50—60.
- Бузников Г. А. 1967. Низкомолекулярные регуляторы зародышевого развития. Изд. «Наука». М. : 1—265.
- Гинецкая Т. А. 1968. Трематоды, их жизненные циклы, биология и эволюция. Изд. «Наука», М.—Л. : 1—410.
- Колмогорова Е. Я. 1959. Строение центральных отделов нервной системы *Opisthorchis felinus*. Зоол. журн., 38 (11) : 1627—1633.
- Котикова Е. А. 1967. Гистохимический метод изучения морфологии нервной системы у плоских червей. Паразитол., 1 (1) : 79—81.
- Ошарин П. Г. 1959. К изучению специфичной экологии гельминтов. ДВ фил. АН СССР. Владивосток : 1—110.
- Резник Г. К. 1966. О локализации холинэстеразы у половозрелых фасциол и дикроцелий. Тематич. сб. работ по гельминтологии с.-х. животных. М., 12 : 153—158.
- Basg Z. M. et Oury A. 1937. Note sur la repartition de la cholinesterase chez les etres vivants. Bull. Acad. Roy. Med. Belg., 23 : 891—893.
- Bueding E. 1952. Acetylcholinesterase activity of *Schistosoma mansoni*. British Journ. of Pharmacol. and Chemoth., 7 : 563—566.
- Gerebtzoff M. A. 1959. Cholinesterases. London : 1—195.
- Gomori J. 1952. Microscopic Histochemistry-Principles and practice. Chicago, Univ. of Chicago Press, 3 : 273.
- Hanström B. 1928. Vergleichende Anatomie des Nervensystems der wirbellosen Tiere unter Berücksichtigung seiner Funktion. Berlin : 1—629.
- Nachmansohn D. and Rothenberg M. A. 1945. Studies of cholinesterases. On the specificity of the enzyme in nerve tissue. J. Biol. Chem., 158 (3) : 1—653.
- Pepler W. J. 1958. Histochemical demonstrations of acetylcholinesterase in the ova of *Schistosoma mansoni*. Journ. of Histochem. and Cytochem., 6 : 139—141.
- Porter A. 1938. The larval trematoda found in certain South African mollusks. Publs. South African Inst. Med. Res., 8 : 72—73.
- Reisinger E. und Graak B. 1962. Untersuchungen am *Codonocephalus* (Trematoda, Digenea, Strigiidae). Nervensystem und paranephridialer Plexus. Z. für Parasitenkunde, 22 (1) : 1—42.

CHOLINESTERASE OF TREMATODES AND SOME PECULIARITIES OF THE STRUCTURE OF THEIR NERVOUS SYSTEM

E. A. Kotikova

S U M M A R Y

Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase topographically associated with the nervous system were found in trematodes by means of Gerebtzoff's method (1959). Apparently, cholinergic transmission of nervous impulses is characteristic for trematodes. The division of the body into locomotor and genital portions in most of trematode species affects the structure of their nervous system. In the anterior (locomotor) portion longitudinal nerves are thickened and connected with ring commissures, in the posterior (genital) portion they are poorly developed and ring commissures are absent. In some species (*Diplodiscus subclavatus*, etc.) there is no division of the body at all due to some peculiarities of their biology. In this case the nervous system is uniformly developed along the whole body.
